

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,

Katedra fyziologie

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Andrea KUŽELOVÁ**

## Rozdíly v aktivitě osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny u kmenů laboratorního potkana

---

### Differences in HPA activity of various rat strains

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: prof. RNDr. Jiří Pácha, DrSc.

Praha 2011

Ráda bych poděkovala svému školiteli prof. RNDr. Jiřímu Páchovi, DrSc. za konzultace a cenné rady při psaní bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

---

V Praze, 09. 05. 2011

# 1. Obsah

---

1. Obsah.....	3
2. Abstrakt .....	4
3. Klíčová slova .....	4
4. Úvod .....	5
5. HPA osa.....	6
5.1. Hypotalamus .....	7
5.1.1. Anatomie hypotalamu.....	7
5.1.2. Funkce hypotalamu .....	8
5.1.3. Vztah hypotalamu k hypofýze .....	10
5.2. Hypofýza .....	12
5.2.1. Anatomie a funkce hypofýzy .....	12
5.2.2. Přední lalok hypofýzy, adenohypofýza.....	12
5.3. Nadledviny.....	14
5.3.1. Kůra nadledvin.....	14
6. Interakce mezi nervovým, endokrinním a imunitním systémem .....	16
6.1. Regulace HPA osy cytokiny.....	17
6.2. Regulace HPA osy glukokortikoidy .....	19
6.3. 11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenáza .....	20
6.4. Zpětná vazba .....	22
7. Aktivita HPA osy a neuroendokrinní odpovědi regulující citlivost a rezistenci ke stresové zátěži u různých potkaních kmenů .....	24
7.1. Fyziologické rozdíly v reakci na zánět .....	25
7.2. Fyziologické a behaviorální rozdíly v reakci na další stresové podněty .....	27
8. Závěr .....	29
9. Seznam použité literatury .....	30

## 2. Abstrakt

---

HPA osa jako celek je nejdůležitější neuroendokrinní soustavou řídící řadu fyziologických a metabolických pochodů v těle. Zahrnuje složitý soubor interakcí mezi hypothalamem, hypofýzou a nadledvinami. Pomáhá vyrovnávat vlivy vnitřního a okolního prostředí tak, aby byla stále udržována nutná homeostáze organismu. Se změnou životního stylu je v posledních letech velmi často atakována řadou stresujících zátěží, jejichž dopad působí mnohá onemocnění. Informace o stresové situaci je zachycena prostřednictvím tzv. stres-senzitivních oblastí limbického systému, které interagují s neuroendokrinními neurony paraventriculárního jádra (PVN) hypothalamu, kde dochází k produkci CRH a AVP, které regulují aktivitu HPA osy. V závislosti na sekreci těchto hormonů dochází v krvi ke zvýšení glukokortikoidních hladin, které regulují probíhající reakce na periférii i v CNS. Pro získání informací o mechanismech ovlivňujících HPA osu je prováděna řada experimentů, jejichž nejtypičtějším modelem jsou různé kmeny potkanů. Na základě porovnávání jejich odlišných reakcí dochází postupně k získávání poznatků, které přispívají k vytváření nových postupů při léčbě psychických, fyziologických či behaviorálních dysfunkcí.

HPA axis is the most important neuroendocrine system, which controls many physiological and metabolic processes in the body. It includes a complex set of interactions between the hypothalamus, pituitary and adrenal glands. It helps to balance the effects of internal and external world in order to maintain homeostasis of the organism. With changing lifestyle of recent years, HPA axis attacked frequently with a number of stressful burden situations whose impact can cause many diseases. The information about the stressful situation is retained by the so-called stress-sensitive areas of the limbic system, which interact with the neuroendocrine neurons of hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) that secrete CRH and AVP and thus activate the HPA axis. Depending on the secretion of these hormones into the blood the plasma level of glucocorticoids is increased and decreased and the ongoing responses are regulated in both periphery and CNS. To increase our knowledge about the mechanisms that modulate the activity of the HPA axis various experimental models are used including those based on different rat strains. Based on comparison of their different reactions that could contribute to the development of new procedures for the treatment of psychological, physiological and behavioral dysfunction is gradually acquired.

## 3. Klíčová slova

---

HPA osa, glukokortikoidy, cytokiny, 11beta-hydroxysteroidní dehydrogenáza, potkaní kmeny, stres.

HPA axis, glucocorticoids, cytokines, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase, rat strains, stress.

## 4. Úvod

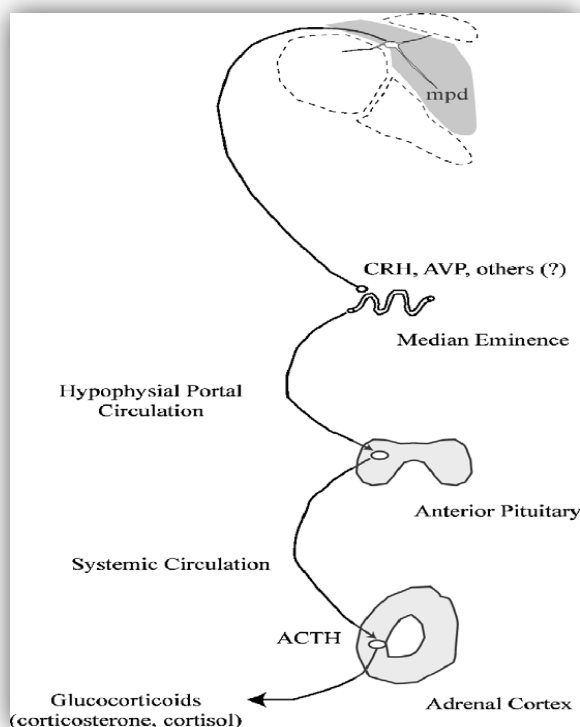
---

V této práci budu mít snahu popsat některé rozdíly v aktivitě osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA osa) u různých kmenů laboratorních potkanů. HPA osa je velmi důležitou dráhou ovlivňující řadu procesů probíhajících v těle. Lze hovořit o komplexní síti reakcí, které jsou propojeny se systémem hormonálním, neurálním a imunitním. Nejdůležitějším místem sjednocujícím tyto tři systémy je paraventriculární jádro (PVN) hypotalamu. Axony parvocelulárních neurosekrečních neuronů PVN na svých zakončeních vylévají peptidy, které jsou hypotalamo-hypofyzárním traktem donášeny do předního laloku hypofýzy, kde regulují sekreci hormonů vstupujících do cirkulace. Parvocelulární neurosekreční buňky tvoří jednak kortikotropin-uvolňující hormon a vasopresin, které regulují sekreci adenohypofyzárního adrenokortikotropního hormonu (ACTH), a tyreotropin-uvolňující hormon, který reguluje sekreci prolaktinu a tyreotropinu. Z hlediska této dráhy je nejdůležitější uvolňování ACTH, který v kůře nadledvin stimuluje uvolňování glukokortikoidů. Glukokortikoidy jsou steroidní hormony vázající se na steroidní receptory, které jsou přítomné téměř v každé buňce obratlovců. V těle zastávají řadu úloh, které regulují metabolické a homeostatické procesy. Jedním z těchto mnoha úkolů je regulace imunitního systému. Mají schopnost zvyšovat expresi proti-zánětlivých cytokinů, a naopak expresi pro-zánětlivých cytokinů snižovat. Proto bývají využívány při léčbě onemocnění, které jsou způsobeny hyperaktivitou imunitního systému, jako je například alergie, astma, autoimunitní onemocnění či sepse. Celá tato dráha má prostřednictvím glukokortikoidů a cytokinů schopnost zpětnovazebné regulace. Pro zjištění jednotlivých mechanismů ovlivňujících regulační kroky HPA osy jsou využívány nejčastěji různé potkaní kmeny. Porovnáváním rozdílných aktivit jejich HPA osy za normálních podmínek a podmínek stresové zátěže mohou být objeveny klíčové kroky, které pomohou vytvořit nové terapeutické postupy.

## 5. HPA osa

HPA osa (z angl. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) je souborem všech přímých a zpětných vazebných interakcí mezi hypothalamem, hypofýzou a nadledvinami. Jedná se o hlavní neuroendokrinní systém, který řídí odpověď vůči stresu a reguluje řadu procesů v těle, včetně trávení, imunitního systému, emocí, nálad, sexuality, skladování a výdeje energie, a dalších. Jedná se o dráhu sjednocující neurální, hormonální a imunitní systém.

HPA osa je spojena s některými mozkovými oblastmi, především limbického systému, jako je hippokampus, amygdala a prefrontální kortex. Velmi důležitým prvkem HPA osy je paraventriculární jádro (PVN) hypothalamu, které obsahuje neuroendokrinní neurony, které při narušení homeostáze, kardiovaskulárními, respiračními a viscerálními stimuly, syntetizují a vylučují vasopresin (AVP) a kortikotropin-uvolňující hormon (CRH) (Aguilera, 1998). Tyto dva hormony ovlivňují především sekreci adrenokortikotropního hormonu (ACTH) předním lalokem hypofýzy, který po uvolnění do krve aktivuje tvorbu a sekreci glukokortikoidů v kůře nadledvin (Whitnal, 1993; Ziegler & Herman, 2002). Ty pak kromě příslušné odpovědi zpětnovazebně inhibují aktivitu HPA osy. Zastavují tvorbu CRH a AVP, což má za následek snížené štěpení proopiomelanokortinu (POMC) na ACTH a  $\beta$ -endorfiny. Mimo to mohou být neurony PVN jádra při infekci aktivovány prostřednictvím cytokinů, a to jednak přímo skrze mozkový kmen, nebo aktivací syntézy oxidu dusnatého či pomocí prostaglandinů (Nadeau & Rivest, 2003).



Obrázek 1.

Schématické znázornění HPA osy u potkana. Reakce HPA osy jsou iniciovány neurosekrečními neurony mediálního paravolulárního paraventriculárního jádra (mpPVN) hypothalamu, které aktivují uvolňování CRH, AVP a možná i dalších látek z *eminencia mediana*. Ty pak aktivují uvolnění ACTH z adenohypofýzy do krve, kterou jsou transportovány do kůry nadledvin, kde stimulují tvorbu a uvolňování glukokortikoidů.

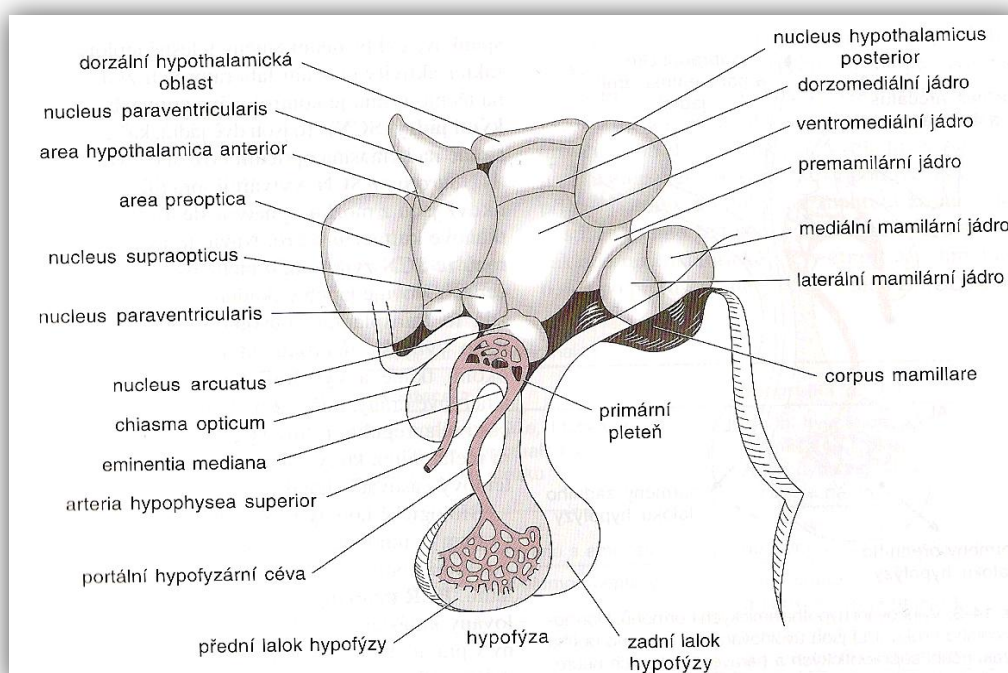
(Herman et al., 2005)

## 5.1. Hypotalamus

### 5.1.1. Anatomie hypotalamu

Hypotalamus je přední částí mezimozku, diencefala, vytvářející přední stěnu a dno III. komory mozkové. Leží pod talamem, resp. pod *sulcus hypothalamicus*, který tyto dvě oblasti odděluje, a zároveň těsně nad mozkovým kmenem. Jedná se o velmi komplexní oblast mozku všech obratlovců. Šedá hmota hypotalamu je seskupena do četných jader – *nuclei* a okrsků – *areae* (regiones). Jádra jsou složena z buněk jednoho typu, hustě uspořádaných a dobře ohraničených oproti okolí. Jednotlivé okrsky jsou pak tvořeny více buněčnými typy, řídce uspořádané a neostře ohraničené. Oba dva typy seskupení jsou předozadně uspořádány do tří paralelních podélných pruhů, hovoří se pak o periventrikulární, mediální a laterální zóně.

V příčném dělení se za sebou rozlišuje: **přední hypotalamus** (*regio hypothalamica anterior*) – obsahující preoptická jádra, *nuclei praeoptici medialis a lateralis*, dále *nucleus suprachiasmaticus*, *nucleus supraopticus*, *nucleus paraventricularis*, *nucleus hypothalamicus anterior*; **střední hypotalamus** (*regio hypothalamica media*) – obsahuje jádra *nucleus arcuatus*, *nuclei tuberales*, *nucleus hypothalamicus ventromedialis*, *nucleus hypothalamicus dorsomedialis*, *nucleus hypothalamicus dorsalis*, *nucleus hypothalamicus paraventricularis posterior*, *nucleus infundibularis*; **zadní hypotalamus** (*regio hypothalamica posterior*) – obsahuje jádra mamilárních těl, *nuclei corporis mamillaris mediales a laterales*, *nucleus hypothalamicus posterior*; a **dorzální hypotalamus** (*regio hypothalamica dorsalis*) – tvořený pouze jedním jádrem, *nucleus ansae lenticularis* (Čihák, 2004).



Obrázek 2.

Hypotalamus a hypofýza. Znárodnění jednotlivých hypothalamických jader a cévního propojení s předním lalokem hypofýzy.

(Ganong, 2005)

Některá jádra fungují jako nadřazené centrum pro autonomní nervstvo, jiná mají neuroendokrinní funkce a produkují statiny a liberiny, které ovládají činnost předního laloku hypofýzy. Jiná jádra produkují a transportují hormony zadního laloku hypofýzy, kde jsou skladovány a následně uvolňovány do krevního oběhu. Další hypotalamická jádra mají funkčně důležitá zapojení do čichových drah a především do výše zmiňovaného limbického systému.

Interakce mezi limbickým systémem a hypotalamem je pozoruhodná, ačkoliv obsahuje poměrně málo přímých propojení s efektorovými neurony PVN, přesto patří mezi hlavní stimuly HPA osy k produkci glukokortikoidů (Herman et al., 2005). Dysfunkce limbického systému většinou znamená vznik řady neuropsychických poruch. Při těchto onemocněních hraje důležitou roli hippokampus, amygdala a prefrontální kortex. Zjistilo se, že hippokampus a prefrontální kortex inhibují stresem vyvolanou aktivaci HPA osy, naopak amygdala sekreci glukokortikoidů stimuluje (Herman et al., 2003).

### 5.1.2. Funkce hypotalamu

Hypotalamus je výkonným centrem řízení homeostáze, kardiovaskulární regulace, termoregulace, osmoregulace, řízení aktivity GIT (gastrointestinálního traktu) a příjmu potravy, řízení většiny endokrinních funkcí (viz dále), řízení biorytmů včetně cyklu „spánek- bdění“, adekvátní vegetativní reakce, sexuální reakce a dalších. Pro větší přehlednost všech základních funkcí hypotalamu je uvedena tabulka (Tabulka 1).

Tabulka 1. **Souhrn základních regulačních mechanismů hypotalamu** (Ganong, 2005).

Funkce	Aferentace z	Integrující oblast
<b>Řízení teploty</b>	Termoreceptory kůže, hlubokých tkání, míchy, hypotalamu a dalších částí mozku	Přední hypotalamus – reakce na teplo; zadní hypotalamus – reakce na chlad
<b>Neuroendokrinní řízení:</b> Katecholaminů	Limbické oblasti spojené s emocemi	Dorzální a zadní hypotalamus
Vazopresinu	Osmoreceptory, „volumoreceptory“ a další	Supraoptické a paraventriculární jádro
Oxytocinu	Dotykové receptory v prsu, děloze a genitálu	Supraoptické a paraventriculární jádro
Thyreotropinu (TSH) přes TRH	Termoreceptory u dětí	Paraventriculární jádro a jeho okolí



Adrenokortikotropinu (ACTH) a $\beta$ -lipotropinu ( $\beta$ -LPH) přes CRH	Limbecký systém (emoce); retikulární formace; buňky hypotalamu a předního laloku hypofýzy citlivé na hladinu kortikoidů v krvi; suprachiasmatická jádra (cirkadiánní rytmus)	Paraventriculární jádra
Folikulostimulačního (FSH) a luteinizačního (LH) hormonu přes GnRH	Hypotalamické buňky citlivé na estrogény, oči, dotykové receptory pokožky a genitálu u živočichů s reflexní ovulací	Area praeoptica
Prolaktinu cestou PIH a PRH	Dotykové receptory prsů	Nucleus arcuatus
Růstového hormonu cestou somatostatinu a GRH	Neznámé receptory	Periventriculární jádro a nucleus arcuatus
<b>Apetitivní chování</b> Žízeň	Osmoreceptory pravděpodobně umístěné v organum vasculosum lamina terminalis, vychytávání angiotensinu II subfornikálním orgánu	Laterální horní hypotalamus
Hlad	„Glukostatické“ buňky citlivé na rychlost utilizace glukózy, leptinové receptory, receptory pro další polypeptidy	Nucleus ventromedialis, arcuatus a paraventricularis; laterální hypotalamus
Sexuální chování	Buňky citlivé na hladinu estrogenů a androgenů v krvi	Přední ventrální hypotalamus, u samců též pyriformní kůra
<b>Obranné reakce (strach, vztek)</b>	Smyslové orgány, neokortex	Difúze v limbickém systému a hypotalamu
<b>Řízení různých endokrinních a aktivních rytmů</b>	Retina prostřednictvím retinohypotalamických vláken	Suprachiasmatická jádra

### 5.1.3. Vztah hypotalamu k hypofýze

Spojení hypotalamu s hypofýzou je dvojího typu. S předním lalokem hypofýzy je hypotalamus spojen prostřednictvím cév, zatímco spojení se zadním lalokem hypofýzy je zprostředkováno svazkem nervových vláken.

Z hypotalamu, z nucleus supraopticus a paraventricularis, vycházejí nemyelinizované nervové výběžky, jejichž axonální zakončení tvoří podstatnou část zadního laloku hypofýzy. Toto spojení bývá označováno jako **hypotalamo-hypofyzární trakt**, a slouží pro transport oxytocinu a vasopresinu do hypofýzy.

Klíčem k pochopení vztahu mezi hypotalamem a hypofýzou je především jejich přímé cévní propojení. Cévy z primární kapilární pleteně v oblasti hypotalamu procházejí stopkou hypofýzy a v adenohypofýze tvoří sekundární pletěň kapilár. Při průchodu hypotalamem se krev obohacuje o hypotalamické hormony, které pak v adenohypofýze vyvolávají stimulaci nebo inhibici sekrece odpovídajících hormonů. Vliv jednotlivých statinů a liberinů secernovaných hypotalamem je znázorněn v tabulce (Tabulka 2). Protože tento systém začíná i končí kapilárami, aniž by přitom krev prošla srdcem, jedná se o pravý portální systém, který majoritně vyživuje hypofýzu u všech živočichů. Za místo jejich vzniku se považuje *eminetia mediana* v předním hypotalamu, která leží mimo hematoencefalickou bariéru.

Tabulka 2. **Přehled hypotalamem secernovaných hormonů** ([en.wikipedia.org/wiki/Hypothalamus](http://en.wikipedia.org/wiki/Hypothalamus)).

Hypotalamický hormon	Vznik	Efekt
<b>Tyreoliberin</b> (Tyreotropin uvolňující hormon) (TRH, TRF, PRH)	Parvocelulární sekreční neurony	Stimuluje uvolňování tyreotropinu (TSH) z předního laloku hypofýzy.  Stimuluje uvolňování prolaktinu z předního laloku hypofýzy.
<b>Dopamin</b> (Prolaktin inhibující hormon) (DA, PIH)	Dopaminní neurony arcuate	nc. Inhibuje uvolňování prolaktinu z předního laloku hypofýzy.

<b>Růstový hormon – uvolňující hormon</b> (GHRH)	Neuroendokrinní neurony nc. arcuate	Stimuluje uvolňování růstového hormonu z předního laloku hypofýzy.
<b>Somatostatin</b> (růstový inhibující hormon) (SS, GHIH, SRIF)	Neuroendokrinní buňky periventrikulárního jádra	Inhibuje uvolňování růstového faktoru z předního laloku hypofýzy.  Inhibuje uvolňování TSH z předního laloku hypofýzy.
<b>Gonadotropin uvolňující hormon</b> (GnRH, LHRH)	Neuroendokrinní buňky preoptické oblasti	Stimuluje uvolňování folikuly-stimulujícího hormonu (FSH) z předního laloku hypofýzy.  Stimuluje uvolňování luteinizačního hormonu (LH) z předního laloku hypofýzy.
<b>Kortikotropin uvolňující hormon</b> (CRH, CRF)	Parvocelulární neurosekreční neurony	Stimuluje uvolňování adrenokortikotropního hormonu (ACTH) z předního laloku hypofýzy.
<b>Oxytocin</b>	Magnocelulární neurosekreční buňky	Kontrakce močového měchýře, laktace.
<b>Vasopresin</b> (antidiuretický hormon) (ADH, AVP)	Magnocelulární neurosekreční buňky	Zvyšuje permeabilitu vody v buňkách distálních tubulů a sběrného kanálku ledvin, čímž zvyšuje resorpci vody a produkci koncentrované moči.

## 5.2. Hypofýza

---

### 5.2.1. Anatomie a funkce hypofýzy

Hypofýza, neboli podvěsek mozkový, je centrální endokrinní žláza, do velké míry nadřazena ostatním žlázám s vnitřní sekrecí. Je uložena na bázi lebky v podvěskové jámě klínové kosti, tzv. tureckém sedle. Pomocí krátké nálevky, infundibulem, je spojena s hypothalamem, který ovládá její činnost. Hypofýza je složena v podstatě ze tří víceméně oddělených endokrinních orgánů, které produkují řadu hormonálně aktivních látek. Jedná se o přední, střední a zadní lalok hypofýzy.

Zadní lalok hypofýzy, neurohypofýza, je tvořen především zakončeními axonů ze supraoptického a paraventriculárního jádra hypothalamu. Prostřednictvím axonálního proudění jsou po navázání na protein neurofyzin transportovány z hypothalamu do zadního laloku peptidy vasopresin neboli antidiuretický hormon (ADH) a oxytocin. Díky těsnému sousedství těchto zakončení s cévními kapilárami jsou hormony následně po odštěpení od neurofyzinu vylučovány do krve, popř. jsou zde skladovány ve formě Herringových tělísek. Neurohypofýza je důležitou endokrinní žlázou regulující vylučování vody ledvinami a kontraktilitu hladkého svalstva.

Neurohypofýza patří mezi tzv. cirkumventrikulární, nebo též paraventriculární orgány. Jedná se o oblasti mozku, které leží v podstatě mimo hematoencefalickou bariéru a mají odlišnou strukturu kapilár na rozdíl od běžných kapilár CNS. Kapiláry jsou fenestrovány, jejich endotelové buňky jsou propojeny prostřednictvím „gap junctions“ a obsahují mnoho transportních vezikulů. Umožňují tak přestup hormonů z krve a zároveň neurosekreci.

### 5.2.2. Přední lalok hypofýzy, adenohypofýza

Adenohypofýza je endokrinní orgán ektodermálního původu, který tvoří propletené buněčné sloupce a rozsáhlou síť sinusoidních kapilár, majících fenestrováný endotel. Buňky obsahují granula skladovaných hormonů, která jsou vyplavována exocytózou. Každý hormon je produkován jiným typem buněk. Buňky se dělí podle afinity k běžným histologickým barvivům na chromofilní a chromofóbní. Chromofóbní buňky se téměř vůbec nebarví, v jejich cytoplazmě nejsou granula, jedná se o inaktivní sekreční buňky, nebo o buňky folikulostelátní, možná secernující cytokin IL-6. Chromofilní buňky jsou barvitelné a obsahují granula, můžeme je rozdělit do pěti podtypů na *somatotropy*, secernující růstový hormon, *laktotropy*, secernující prolaktin, *kortikotropy*, secernující proopiomelanokortin, *thyrotropy*, produkující tyreotropin, a *gonadotropy*, tvořící folikulostimulační hormon a luteotropin.

Adenohypofýza reguluje řadu fyziologických procesů včetně stresu, růstu a reprodukce. Její regulační funkce je dosaženo prostřednictvím sekrece různých peptidových hormonů, působících na cílové orgány, například nadledviny, štítnou žlázu, pohlavní žlázy, kosti, játra a další. Samotná činnost adenohypofýzy je ovlivňována hormony hypotalamu, a to prostřednictvím výše zmíněného propojení portálními cévami. Pro přehled účinků hypofyzárních hormonů je uvedena tabulka (Tabulka 3).

Tabulka 3. **Hlavní účinky hypofyzárních hormonů** (Ganong, 2005).

Název a zdroj	Hlavní účinky
<b>Přední lalok</b>	
Hormon stimulující thyroideu (TSH, thyreotropin)	Stimulace sekrece a růstu štítné žlázy.
Adrenokortikotropní hormon (ACTH, kortikotropin)	Stimulace sekrece a růstu zona glomerulosa a zona reticularis kůry nadledvin.
Růstový hormon (GH, somatotropin STH)	Zrychluje tělesný růst, stimuluje sekreci IGF-1.
Hormon stimulující folikuly (FSH)	Stimuluje růst ovariálních folikulů u žen a spermatogenezi u mužů.
Luteinizační hormon (LH)	Stimuluje ovulaci a luteinizaci u žen a sekreci testosteronu u mužů.
Prolaktin (PRL)	Stimuluje sekreci mléka a mateřské chování.
β-lipotropin (β-LPH)	
Hormon stimulující melanocyty γ (γ-MSH)	
<b>Střední lalok</b>	
Hormony stimulující melanocyty α, β a γ (α, β a γ-MSH, společně zvané melanotropin a intermedin)	Expanduje melanofory u ryb, obojživelníků a plazů. Stimuluje syntézu melaninu v melanocytech u lidí.
γ-lipotropin (γ-LPH), peptid intermediárního laloku podobný kortikotropinu (CLIP) a další fragmenty proopiomelanokortinu)	
<b>Zadní lalok</b>	
Vasopresin (antidiuretický hormon, ADH)	Podporuje zadržování vody.
Oxytocin	Laktace, kontrakce dělohy na konci těhotenství.

## 5.3. Nadledviny

---

Glandula suprarenalis, nadledvina, je párový orgán svrchu přiložený k ledvinám. Jedná se o kombinovanou endokrinní žlázu, která v sobě sdružuje v podstatě dva orgány: kůru nadledviny, mesodermálního původu; a dřeň nadledviny, neuroektodermálního původu.

Dřeň, medulla, obsahuje chromafinní granula, jejichž hlavním obsahem jsou katecholaminy, tzv. A-buňky produkují adrenalin, tzv. N-buňky noradrenalin. Kromě adrenalinu a noradrenalinu secernuje dřeň nadledvin dopamin.

Sekrece dřeně nadledvin je závislá na nervovém systému. Za běžného stavu je sekrece katecholaminů nízká, navíc během spánku se dále snižuje. Zvýšená sekrece je podmíněna sympatickou aktivací, vyvolanou stresovými situacemi. Tato aktivace připravuje organismus na „boj nebo útěk“. Sekrece noradrenalinu se zvyšuje při emočním stresu, který je již jedinci známý, kdežto sekrece adrenalinu se zvyšuje v situacích, kdy jedinec neví, co má očekávat.

### 5.3.1. Kůra nadledvin

Cortex, kůra nadledviny, představuje přes 70% objemu celkového orgánu. Skládá se z epitelových buněk, obklopených kapilárami. Buňky, vzhledem k produkci steroidů, jsou bohaté na endoplazmatické retikulum, mitochondrie a Golgiho aparát. V kůře se rozeznávají tři vrstvy - *zona glomerulosa*, produkující mineralokortikoidy, *zona fasciculata*, produkující glukokortikoidy a androgeny, a *zona reticularis*, taktéž produkující glukokortikoidy a androgeny.

Hormony kůry nadledvin jsou obecně deriváty cholesterolu, obsahují cyklopentanoperhydrofenantrenové jádro. Kůra nadledvin secernuje především  $C_{21}$  a  $C_{19}$  steroidy.  $C_{19}$  steroidy mají na pozici 17 keto- nebo hydroxylovou skupinu, jedná se o látky s androgenní aktivitou.  $C_{21}$  steroidy mají na pozici 17 dvou-uhlíkový postranní řetězec, a člení se na glukokortikoidy a mineralokortikoidy. Jako mineralokortikoidy se označují steroidy, které mají především účinek na vylučování  $K^+$  a  $Na^+$ , a jako glukokortikoidy ty, u nichž převažuje účinek na metabolismus glukózy a proteinů, ale oba dva typy steroidů mají v zásadě obojí aktivitu.

V kůře nadledvin se obecně tvoří řada různých steroidů (kolem třiceti), ale jen málo z nich je secernováno ve fyziologicky významném množství. Proto často mluvíme pouze o jediném mineralokortikoidu, **aldosteronu**, glukokortikoidech **kortizolu** a **kortikosteronu** a androgenech **dehydroepiandrosteronu** (DHEA) a **adrostendionu**.

Všechny druhy živočichů, od obojživelníků až po lidi, mají schopnost secernovat všechny typy C<sub>21</sub> steroidů, ale ve výrazně odlišném poměru. Ptáci, myši a potkani tvoří téměř výhradně kortikosteron, ostatní živočichové naopak především kortizol. Například u lidí je poměr mezi secernovaným kortizolem a kortikosteronem 7:1.

Syntéza adrenokortikálních hormonů je aktivovaná dvěma hormony – ACTH vazbou na receptory v plazmatické membráně adrenokortikálních buněk, a angiotensinem II v *zona glomerulosa*. Ty aktivují zvýšenou konverzi esterů cholesterolu vázaných v tukových kapénkách v kůře nadledviny na volný cholesterol, který následně aktivuje syntézu cytochromů P450. Jedná se o poměrně velkou rodinu cytochromů, kam patří řada enzymů steroidní biosyntézy, například cholesteroldezmoláza, která katalyzuje přeměnu cholesterolu na pregnenolon, sloužící jako prekurzor pro progesteron, jehož přeměnou vznikají finální hormony kůry nadledvin.

Angiotensin II, který aktivuje syntézu aldosteronu, se v oběhu vyskytuje v závislosti na zvýšené extracelulární hladině draselných iontů, nízké extracelulární hladině iontů sodných, či v závislosti na nízké hladině tělních kapalin, což je rozpoznáno sníženým průtokem krve ledvinami. Aldosteron pak zákonitě zvyšuje vylučování iontů draslíku, zvyšuje intersticiální hladiny sodíkových iontů jejich zpětnou reabsorbci a zadržuje vodu v těle.

Adrenokortikotropní hormon ACTH reguluje sekreci glukokortikoidů, kortizolu u člověka, či kortikosteronu u potkanů. Po vazbě na cílový receptor glukokortikoid zvyšuje metabolismus několika způsoby – stimuluje uvolňování aminokyselin, lipolýzu, glukoneogenezi, zadržuje tekutiny, stimuluje srdeční kontrakce a má antialergické účinky.

Steroidy jsou látky hydrofobní, velmi málo rozpustné ve vodě, proto musejí být po exkreci adrenokortikálními buňkami navázány na příslušné krevní přenašeče. Kortizol se v krvi váže na v játrech vznikající globulin vázající kortikosteroidy (CBG) neboli transkortin, část se též váže na albumin. Podobně, ale v menší míře se váže i kortikosteron. Díky tomu je i poločas rozpadu kortizolu větší (60-90 min) než kortikosteronu (50 min). Vázané steroidy jsou fyziologicky neaktivní, slouží v podstatě jako krevní zásobárny hormonu, aktivními se stávají až vyvázáním z vazby ve tkáních. Ve finále jsou kortizol a kortikosteron metabolizovány v játrech konjugací nejčastěji s kyselinou glukuronovou, může vznikat i sulfát.

## 6. Interakce mezi nervovým, endokrinním a imunitním systémem

---

Interakce mezi nervovým, endokrinním a imunitním systémem byla poměrně dlouhou dobu nezaznamenána. Ještě téměř před dvaceti lety si tuto skutečnost neuvědomovala řada vědců. Dnes ovšem existují stovky experimentálních a klinických dat, které interakci mezi všemi třemi soustavami potvrzují, a dokládají mechanismy, které se jí účastní. (Rivest, 2010; Haddad et al., 2002).

Nervový, endokrinní a imunitní systém mají shodné ligandy a receptory, pomocí kterých se vzájemně ovlivňují. Mechanismy, které regulují míru této interakce, se vyskytují na několika úrovních. Jedná se o regulační mechanismy sympatoadrenálního systému, který ovlivňuje chod organismu prostřednictvím neurotransmiterů, adrenalinu a noradrenalinu, dále o mechanismy vyskytující se v rámci imunitní soustavy, a samozřejmě u HPA osy. Všechny jsou důležité pro zachování správné funkce jednotlivých orgánů a k udržování homeostáze.

Důležitým meziklánekem mezi všemi třemi soustavami je HPA osa. Prostřednictvím hypofýzy je propojen nervový systém s řadou endokrinních orgánů, a orgánů zajišťujících imunitní ochranu organismu. CNS tak může aktivovat uvolňování hormonů, popřípadě i látek imunitního systému. Tato komunikace, jak již bylo řečeno, není jednosměrná, a především prostřednictvím zpětné vazby, mohou existovat různá propojení. Interakce HPA osy a imunitního systému, stejně jako komunikace HPA osy s glukokortikoidy, bude podrobněji diskutována později.

Důležitou roli při komunikaci má kortikotropin uvolňující hormon (CRH), jehož funkce v rámci HPA osy byla již dříve zmiňována. Poprvé byl charakterizován v roce 1981, jako látka schopná regulace endokrinní odpovědi na stres. Nyní je známo, že tato rodina neuropeptidů a receptorů je zapojena v různých rolích udržování homeostáze, což je důležité pro rychlou mobilizaci zdrojů a změnu chování při stresové situaci. V posledních letech byla této rodině proteinů navíc přiřazena role regulace příjmu potravy, krevního tlaku, sluchu, srdeční funkce a GIT motility (Taché & Stengel, 2009).

Souhra těchto soustav může být narušena stresovými podněty. Na ty HPA osa reaguje jednak změnou aktivity imunitního systému, díky čemuž se na jedinci může stres podepsat poruchou imunity (Besedovsky & del Rey, 2011), ale zejména nastartováním produkce glukokortikoidů v kůře nadledvin. Samotné glukokortikoidy a jejich nízko- a vysoko-afinní receptory pak zpětnovazebně ovlivňují její činnost (Reul et al., 2000).



## 6.1. Regulace HPA osy cytokiny

---

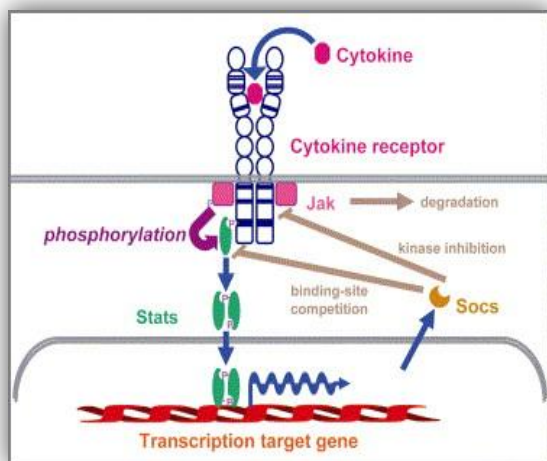
Cytokiny, chemokiny a prostaglandiny jsou látky patřící do super-rodiny tzv. pro-zánětlivých molekul, které jsou zodpovědné za řadu autonomních a neuroendokrinních změn, které probíhají v průběhu akutní fáze v odpovědi na všechny typy stresorů. Podle posledních studií jsou cytokiny důležité i pro normální fungování mozkové činnosti, uplatňují se při zachovávání paměti, mohou měnit chování, mají pravděpodobně význam i při vzniku duševních poruch (Anisman et al., 2002).

Tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 (IL-1 $\alpha$  a IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18 a interferony (IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$ ) patří všechny mezi cytokiny vrozeného imunitního systému. Mezi potencionální látky schopné modulace CNS patří TNF- $\alpha$ , IL-6 a IL-1 $\beta$ , které jsou v přítomnosti cizorodého materiálu okamžitě vylučovány do krevního řečiště a roznášeny na dlouhé vzdálenosti.

Ovšem vzhledem k předpokladu, že bílkoviny nemají schopnost procházet skrze hematoencefalickou bariéru, je sporné, jak by propojení mezi imunitní a nervovou soustavou mohlo existovat. Proto byly provedeny studie, které prostřednictvím radioaktivně značených cytokinů objevily „přenos-zprostředkující systém“, který transportoval rekombinantní lidský IL-1 alfa v intaktní podobě z krve do CNS (Banks et al., 1999). Následně byly objeveny další typy přenašečů, specifické pro jednotlivé cytokiny. Kromě tohoto aktivního transportu mohou cytokiny procházet do mozku pravděpodobně i prostřednictvím cirkumventrikulárních orgánů.

Studie ukazují, že při poškození tkáně jsou prostřednictvím bakteriálních lipopolysacharidů (LPS) produkovány cytokiny, které mění jednak lokální endokrinní funkce, ale které jsou zároveň krví dopravovány k cílovým buňkám hematoencefalické bariéry. Nejpravděpodobnějším kandidátem na zprostředkování komunikace mezi periferií a mozkem je jak při lokálním, tak systémovém poškození IL-1 $\beta$  (Lahmame et al., 1997). Vazba IL-1 $\beta$  na příslušný cytokinový receptor vede skrze kaskádu reakcí k stimulaci HPA osy k uvolňování protizánětlivě působících glukokortikoidů. LPS zároveň stimulují prostřednictvím specifických receptorů intrahypofyzární produkci IL-6 ve folikulostelátních buňkách, který aktivuje „Jak-Stat-Socs“ signalizaci, která prodlužuje neurální aktivaci a autonomní funkce.

„Jak-Stat-Socs“ signalizace je běžnou kaskádou reakcí, která je aktivovaná různými typy cytokinových receptorů. Ty patří do rodiny receptorů s tyrosin-kinázovou aktivitou, které po aktivaci ligandem fosforylují příslušnou cytoplazmatickou „Jak“ kinázu, která zahajuje intracelulární reakce. „Jak“ kináza fosforyluje kinázu „Stat“ působící jako transkripční faktor aktivující expresi příslušného genu. Aktivací „Socs“ genů dochází ke zpětnovazebné negativní regulaci cytokinové signalizace (viz. Obrázek 3).



Obrázek 3. Aktivace „Jak-Stat-Socs“ signalizace cytokinovými receptory.

Cytokiny se navážou na specifické receptory na povrchu buněk, čímž se aktivuje jedna či více specifických „Jak“ kináz. Fosforylované „Jak“ kinázy slouží jako „dokovací“ místo pro „Stat“ kinázy, jejichž fosforylaci se tvoří homo- nebo heteroduplexy vstupující do jádra. Zde se vážou na specifické promotory aktivující transkripci velké škály cílových genů. Aktivaci „Socs“ genů dochází

k tvorbě proteinů, které negativně regulují cytokinovou signalizaci. Zpětnovazebný mechanismus je uskutečněn třemi různými mechanismy: inhibicí „Jak“ kinázy, kompeticí se „Stat“ kinázami o vazebné místo a degradací receptorového komplexu (O’Sullivan et al., 2007).

LPS stimulovaná sekrece IL-6 v hypofyzárních buněčných kulturách potvrdila, že zvýšená koncentrace interleukinů současně zvyšuje sekreci ACTH. Protilátka My4 blokující interakci LPS s receptorem CD14 totiž inhibovala jak zvýšené hladiny IL-6, tak ACTH. To může představovat hypofyzární specifický mechanismus stimulující HPA osu při infekci či zánětu (Webster et al., 1998). Je zajímavé, že vazba IL-1 $\beta$  na odpovídající receptor v hematoencefalické bariéře, stejně jako IL-6 v nadledvině, vede ke spuštění transkripce COX-2 (cyklooxygenáza-2) genu. Je tedy pravděpodobné, že při odpovědi na imunitní apel budou mít jistou úlohu i eikosanoidy.

Cytokiny můžeme podle jejich účinků pod vlivem stresové situace rozdělit na imunosupresivní (tlumící účinky imunitní reakce; též protizánětlivé) a imunoenhancerové (zvyšující citlivost imunitního systému; též pro-zánětlivé). Mezi imunosupresivní cytokiny například řadíme IL-2 a IFN- $\gamma$ . Pro-zánětlivé účinky vyvolávají naopak zvýšené hladiny cytokinů IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  a cytokiny rodiny gp130, které patří mezi hlavní mediátory aktivující HPA osu. Tyto cytokiny vyvolávají zánět, o jehož stavu je CNS informována prostřednictvím parasympatického nervového systému. Naopak sympatický nervový systém může prostřednictvím neurotransmiterů (noradrenalinu a adrenalinu) aktivovat expresi řady cytokinů, což je klíčovým mechanismem při komunikaci CNS s imunitním systémem (Dunn, 2006).

HPA osa je cytokiny stimulovaná jednak přímo na úrovni hypofýzy, či nadledvin, ale také spouští infundibulární sekreci kortikotropin uvolňujících hormonů (CRH) pocházejících z parvocelulárních neuronů PVN hypotalamu (Elenkov et al., 1999). Kromě CRH, majícího původ v hypotalamu, je důležitá funkce i extra-hypotalamického CRH, který působí jako neurotransmiter v integraci multisystémových odpovědí na stres.

## 6.2. Regulace HPA osy glukokortikoidy

---

Glukokortikoidy jsou steroidní látky zastávající v těle řadu úloh, kterými regulují metabolické a homeostatické procesy (Harris et al., 2001). Jsou secernovány kůrou nadledvin po aktivaci HPA osou, jednak cirkadiánní rytmitou, jednak při odpovědi na stres. Při stresu dochází ke zvýšené sekreci ACTH, a vlivem toho i k produkci glukokortikoidů. Toto zvýšení je nezbytné pro přežití. Ovšem důvod, proč je tomu tak, není přesně známý. Podněty, které zvyšují hladiny ACTH v krvi, také aktivují sympatický nervový systém, což může být jeden z důvodů vyšších hladin glukokortikoidů při stresové situaci, aby udržovaly cévní reaktivitu na katecholaminy (Ganong, 2005). Kromě toho glukokortikoidy aktivují katecholaminy k mobilizaci energie, pravděpodobně zamezují jiným, stresem vyvolaným změnám a mají důležitý vliv na imunitní systém.

Glukokortikoidy mají proti-zánětlivé účinky, snižují sekreci cytokinů. Při snížení produkce IL-2 dochází k zastavení proliferace lymfocytů, a ty podléhají apoptóze. Takto zvyšují destrukci eozinofilů ve slezině a plicích, čímž se vysvětluje i jejich antialergický účinek.

Kromě těchto účinků je vhodné zmínit i vliv glukokortikoidů na mozek, kde například aktivují učení, paměť či strach. Zároveň ovlivňují většinu neurálních drah, ovlivňují jejich genovou expresi, hospodaření s vápenatými ionty, činnost iontových kanálů, a další (Seckl et al., 2001).

K tomu, aby mohly glukokortikoidy vyvolat reakci, musí mít k dispozici dostatek receptorů. Jejich zastoupení pak reguluje aktivitu HPA osy (de Kloet et al., 2000). Obecně můžeme steroidní receptory rozdělit na dva typy. Typ I, mineralokortikoidní receptory (MR), a typ II, glukokortikoidní receptory (GR). Oba dva druhy receptorů nacházíme hojně jak na periférii, tak v mozku, MR se nacházejí zejména v hipokampu, zatímco GR jsou rozmístěné po celé CNS.

Oba dva typy receptorů se od sebe vzájemně odlišují afinitou vůči kortikosteronu, a zároveň se sami mezi sebou liší velikostí vytvořené odpovědi na ligand. MR jsou obsazeny i při nízkých hladinách glukokortikoidů, GR vyžadují jejich vysoké koncentrace (de Kloet et al., 2010). Vlivem odlišné afinity receptorů k ligandům mají receptory zároveň i odlišný účinek. MR působí inhibičně na neurony PVN hypotalamu a GR zprostředkovávají negativní zpětnou vazbu vůči aktivitě HPA osy (Reul et al., 2000).

Bylo zjištěno, že biologická aktivita glukokortikoidů není dána pouze jejich koncentrací v krvi, kterou má schopnost kontrolovat HPA osa, ale závisí především na intracelulárních hladinách. Mezi rozhodující faktory určující jejich zastoupení v buňce patří některé membránové struktury, například ABC pumpa či MDR1 P-glykoprotein. Ty mají schopnost selektivně bránit vstupu některých steroidů do buňky.

Kromě toho je založena aktivita řady glukokortikoidů na přítomnosti hydroxylové skupiny na pozici C-11 steroidu. Kortisol a hlavní glukokortikoid u většiny hlodavců, kortikosteron, jsou aktivními steroidy, zatímco kortison a 11-dehydrokortikosteron, mající na pozici C-11 keto skupinu, jsou inaktivní (Harris et al., 2001). Existuje enzym, který má schopnost tyto dvě formy – aktivní a neaktivní vzájemně měnit, a tak ovládat lokální metabolismus glukokortikoidů. Jedná se o enzym 11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenázu (11HSD), která tak reguluje přístup glukokortikoidů k jejich receptorům. Podrobnější informace o tomto enzymu jsou zmiňovány později.

Činnost HPA osy je inhibována negativní zpětnou vazbou vysokými hladinami glukokortikoidů v krvi, čímž se celý cyklus uzavírá, dochází k vyrovnání bazálních hladin, aby mohlo dojít k případné další aktivaci. Poškození této regulace mění bazální hladiny glukokortikoidů, a vznikají pak různé patofyziologie, především vlivem narušení tělní homeostáze.

### 6.3. 11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenáza

---

11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenáza (11 $\beta$ -HSD) je glukokortikoidy metabolizující enzym, který mění aktivitu glukokortikoidů tkáňově specifickým způsobem (Holmes & Seckl, 2006). Existují dva izoenzymy, 11 $\beta$ -HSD typu 1 a 11 $\beta$ -HSD typu 2, které ve většině tkání řídí protichůdné enzymatické reakce. První docenění 11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenázy přišlo roku 1950 s objevem kortisonu, za což *Hench, Kendall a Reichstein* obdrželi Nobelovu cenu, a krátce na to byla charakterizována 11 $\beta$ -HSD1, zvaná jako „jaterní izoenzym“, díky jejímu vyizolování z krysích jater. Později byla v ledvinách nalezena 11 $\beta$ -HSD2, proto též označení „renální“. Rozdíly mezi oběma izoenzymy jsou zaznamenány níže v tabulce (Tabulka 4).

Oba dva izoenzymy jsou členy tzv. SDR („short-chain“ dehydrogenáza/reduktáza) enzymatické superrodiny s krátkým řetězcem. Přesto sdílejí pouze 21% homologie, která se typicky nachází v místech konzervovaných oblastí (Draper & Stewart, 2005). U většiny členů této rodiny je takovým místem například „kofaktor-vázající“ oblast, která je charakterizovaná jako GXXXGXG, a je specifická pro NADPH. Ovšem vlivem dehydratačních a epimeračních reakcí může i zde docházet ke změnám, čímž se změní i typ kofaktoru. Poměrně nízké procento sekvenční shody těchto dvou izoenzymů je dáno jednak variabilitou v rámci rodiny a zejména faktem, že oba dva izoenzymy jsou odlišnými genovými produkty.

Tabulka 4. **Hlavní rozdíly mezi 11 $\beta$ -HSD1 a 11 $\beta$ -HSD2 izoenzymy** (Draper & Stewart, 2005).

	<b>11<math>\beta</math>-HSD1</b>	<b>11<math>\beta</math>-HSD2</b>
Chromozomální lokalizace	1q32,2	16q22
Velikost	Gen: 30 kb, 6 exonů	Gen: 6,2 kb, 5 exonů
	Protein: 292 aa, 34 kDa	Protein: 405 aa, 44 kDa
Enzymatická rodina	SDR superrodina	SDR superrodina
Tkáňová exprese	Játra, plíce, gonády, hypofýza, mozek, tuková tkáň.	Ledviny, střevo, slinné žlázy, placenta.
Enzymatická kinetika	<i>In vitro</i> obousměrná, <i>in vivo</i> především reduktázová. Kofaktor NADP(H).	Pouze dehydrogenázou. Kofaktor: NAD.
Funkce	Poskytuje kortisol pro GR.	Chrání MR před kortisolem.

11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenáza typu 1 (11 $\beta$ -HSD1) působí jako nízkoafinitní NADP(H)-dependentní enzym, schopný jak 11-oxo-redukčních, tak dehydrogenázových reakcí. *In vivo* lokálně zvyšuje hladiny glukokortikoidů redukcí 11-keto derivátů (kortisonu, 11-dehydrokortikosteron), čímž regeneruje biologicky aktivní kortikosteroidy (Chapman & Seckl, 2008).

11 $\beta$ -HSD1 má navíc schopnost přeměny 7 $\alpha$ -hydroxydehydroepiandrosteronu (DHEA) na 7-oxo-DHEA a 7 $\beta$ -hydroxy-DHEA (Muller et al., 2006), díky čemuž jsou tkáně syntetizující 7 $\alpha$ -DHEA, jako je například mozek schopny měnit efektivitu přeměny aktivních a neaktivních glukokortikoidů. Je totiž předpoklad, že metabolity přeměny 7 $\alpha$ -DHEA kompetují s glukokortikoidy o vazebné místo na 11 $\beta$ -hydroxysteroidní dehydrogenáze, čímž brání jejich aktivaci či inhibici.

11 $\beta$ -HSD1 je silně exprimována v cílových tkáních glukokortikoidů, kde usnadňuje přístup glukokortikoidů ke glukokortikoidním receptorům (GR) (Draper & Stewart, 2005). Jedná se především o játra, tukovou tkáň, plíce, varlata, děložní sliznici, či imunitní buňky (Vagnerová et al., 2006). Mimo to je také exprimována v CNS, v místech, kde dochází k negativní zpětné vazbě, jako je PVN hypotalamu, hippokampus, hypofýza (Jellinck et al., 1997) a mozková kůra (Holmes & Seckl, 2006).

11 $\beta$ -HSD2 je enzym katalyzující pouze jednosměrnou reakci, ke které vyžaduje NAD<sup>+</sup> jako kofaktor, a ve které přeměňuje kortisol na kortison. Má vysokou afinitu vůči kortisolu s  $K_m$  kolem 50nM (100x vyšší než 11 $\beta$ -HSD1) a 5nM pro kortikosteron (Tomlinson et al., 2004).

Tkáňová distribuce 11 $\beta$ -HSD2 koreluje s cílovými tkáněmi mineralokortikoidů, jako jsou ledviny a tlusté střevo. V mozku dospělého potkana je 11 $\beta$ -HSD2 exprimovaná v několika jádrech, jejichž úloha je většinou spojena s kontrolou bilance solí a vody v těle, a krevním tlakem.

Nejdůležitější úlohou 11 $\beta$ -HSD2 na periférii je ochrana MR v ledvinách před aktivací glukokortikoidy, namísto jejich přirozeného ligandu, aldosteronu. Bez tohoto pre-receptorového metabolismu jsou MR aktivovány kortikosteronem nebo kortisolem a vzniká tzv. syndrom zdánlivého mineralokortikoidního nadbytku (SAME). Ten je možné vidět u pacientů se sníženou aktivitou 11 $\beta$ -HSD2, vlivem mutace 11 $\beta$ -HSD2 genu (White et. al., 1997). Vyústěním selháním aktivity 11 $\beta$ -HSD2 izoenzymu je vznik tzv. Cushingovy choroby ledvin (Draper & Stewart, 2005). Nemocní s Cushingovým syndromem vykazují následkem nadměrného katabolismu proteinů jejich rapidní úbytek. Mají tenkou kůži a podkožní tkáň, jejich svaly jsou oslabené. Charakteristickým znakem této nemoci, která může být také způsobena přebytkem ACTH (např. nádorovým onemocněním hypofýzy), je redistribuce tuku. Končetiny jsou tenké a tuk se hromadí v břišní dutině, na tvářích a zádech, kde tvoří hrb. Protože se velká část katabolizovaných proteinů konvertuje v játrech na glukózu, vzniká jako vedlejší příznak této choroby diabetes mellitus II typu (Ganong, 2005). Často také dochází ke vzniku osteoporózy.

## 6.4. Zpětná vazba

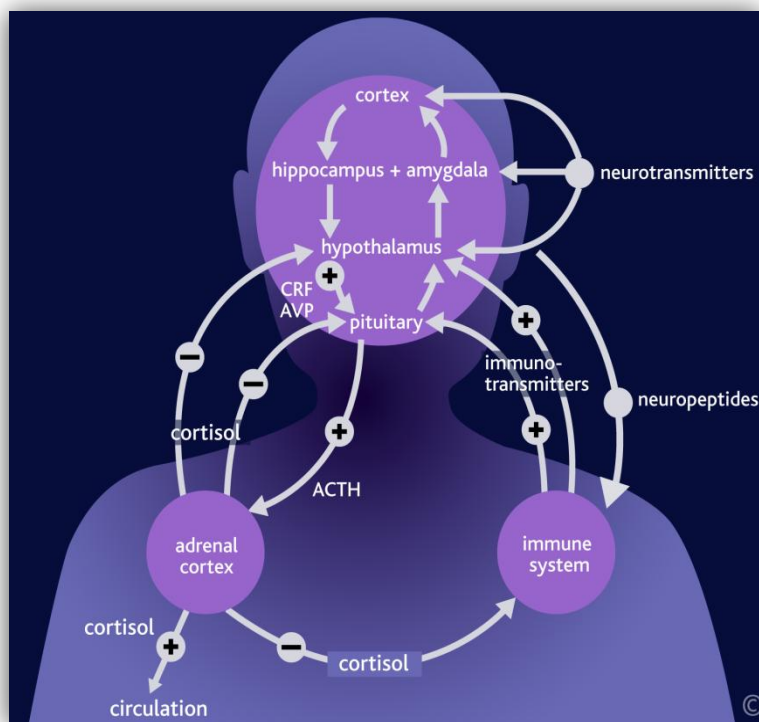
---

Zpětnou vazbu dělíme na negativní a pozitivní.

Negativní zpětná vazba je reakce, která prostřednictvím zvýšených hladin určitých látek v systému inhibuje mechanismus, který toto zvýšení vyvolal. Jednoduše řečeno, když žláza X uvolní hormon x, který v cílových buňkách stimuluje uvolnění hormonu y, budou jeho nadbytky inhibovat uvolňování hormonu x, a tím i následně uvolňování sebe sama. Jedná se o reakce, které jsou důležité pro udržování homeostáze, bez jejich působení dochází ke vzniku řady onemocnění. Negativní zpětnou vazbu můžeme v těle najít při regulaci řady dějů, například při hormonální regulaci, při regulaci teploty, krevního tlaku, kontrole obsahu glukózy v krvi, složení moči, a dalších.

Hlavním působištěm negativní zpětné vazby je HPA osa, resp. hypofýza a hypotalamus. Dle obrázku (Obrázek 4) je vidět, kterými drahami je HPA osa regulována, a to jak stimulačně, tak inhibičně. Při zaměření se na negativní zpětnovazebné ovlivňování HPA osy je vidět, že látkami s touto schopností jsou glukokortikoidy. Naopak pozitivní zpětnou vazbu vyvolávají látky imunitního systému, cytokiny.

Obrázek 3. Zpětnovazebné signální dráhy HPA osy. (CNS forum.com).



Mezi hlavní hormony, které ovlivňují HPA osu patří kortikotropin-uvolňující faktor (CRF), arginin-vasopresin (AVP) a adrenokortikotropní hormon (ACTH). Celá smyčka je doplněna negativní zpětnou vazbou glukokortikoidů na hypothalamus a hypofýzu. Glukokortikoidy zároveň negativně ovlivňují aktivitu imunitního systému. Kromě toho může být HPA osa ovlivněna působením neuropeptidů a neurotransmiterů z různých oblastí mozku.

Glukokortikoidy mohou prostřednictvím negativní zpětné vazby ukončit sekreci ACTH. Existují dva mechanismy negativní zpětné vazby, jednak tzv. „rychlá odpověď“, která je citlivá vůči sekreci glukokortikoidů z nadledvin a je pravděpodobně negenomická, a pak tzv. „opožděná zpětná vazba“, která odpovídá na vysoké hladiny glukokortikoidů v krvi, a je genomová. Prodlužující se trvání stresové situace pak vede k dlouhodobým změnám v rámci hypofýzy, kde se mění obsah proopiomelanokortinu a zásob ACTH.

Endogenní glukokortikoidní receptory modulují genovou expresi glukokortikoidů i různých transkripčních faktorů. Pokud je jedinec vystavený chronickému stresu, po čase dochází ke snížení glukokortikoidní reakce.

Naopak cytokiny mají na HPA osu pozitivní regulační vliv. Uvolňování interleukinu IL-1 $\beta$  a dalších pro-zánětlivých molekul během tkáňového poškození vede k nabuzení HPA osy, která začne produkovat CRH a glukokortikoidy. Zvýšení počtu cytokinů v tkáni nevede k utlumení reakce, ale naopak se přes HPA osu aktivuje tvorba dalších glukokortikoidů, jejichž hladina je kontrolována negativní zpětnou vazbou. Po zahojení se hladiny cytokinů sníží a HPA osa jimi přestane být aktivována.

## 7. Aktivita HPA osy a neuroendokrinní odpovědi regulující citlivost a resistenci ke stresové zátěži u různých potkaních kmenů



Potkani jsou velmi vhodným modelem pro řadu laboratorních studií. Často se využívají pro objasnění interakcí mezi nervovým, endokrinním a imunitním systémem. Jako vhodný porovnávací model slouží histokompatibilní inbrední kmeny Fisher (F344) a Lewis (LEW) potkanů, a zároveň jejich mateřský outbrední kmen potkanů Sprague-Dawley (SD), kteří se mezi sebou liší řadou fyziologických a behaviorálních znaků.

Pod pojmem stresová zátěž si můžeme představit jakýkoliv mimořádný stav, který bude určitým způsobem narušovat homeostázu organismu. V dnešní moderní společnosti se jedná o nejrozšířenější jev, často vedoucím ke zdravotním problémům. Vystavování se náročným situacím způsobuje řadu psychických a fyziologických změn, které se projevují neklidem, náladovostí, podrážděností, nevolností, poruchami příjmu potravy, a řadou dalších.

Při stresové situaci dojde k rychlému narušení vnitřního prostředí organismu, na což reaguje nejdříve sympatický nervový systém, a následně dochází i k sekreci glukokortikoidů. Podle délky působení můžeme stres rozdělit na akutní a chronický. Akutní stresová situace zatěžuje organismus po dobu několika minut či hodin. Projevuje se zvýšením řady klidových hodnot, může dojít i poruše důležitých životních funkcí, například ke zvýšení krevního tlaku, či tepové frekvence. Organismus má ale schopnost se s danou situací poměrně dobře vypořádat, a po ukončení stresové stimulace dochází k navrácení do původního stavu. Chronický stres je naproti tomu dlouhotrvající záležitostí, která se projevuje úzkostí a depresi. Organismus při těchto stavech spouští řadu „život-zachraňujících“ mechanismů, jako je například uvolňování glukózy, či zvýšení krevního tlaku.

Chronický stres může ovlivnit řadu imunitních reakcí v těle. Bylo prokázáno, že chronický stres u dětí může vlivem snížené funkce hypofýzy při produkci růstového faktoru způsobit poruchu ve vývoji (Sanches, 2006). U dospělých jedinců, žijících v neustálém stresu, dochází ke zvýšenému ukládání tuku v oblasti břicha. To, způsobuje změnu hormonálních a metabolických procesů v těle, které přispívají ke vzniku řady onemocnění. Chronický stres je doprovázený dysfunkcí HPA osy. Studie, které se zabývají aplikováním chronického stresu na zvířecí modely, nejčastěji potkany či myši, mohou poskytnout důležité informace o faktorech, které ji ovlivňují a vedou ke vzniku daných onemocnění.



## 7.1. Fyziologické rozdíly v reakci na zánět

---

Především z důvodu poměrně snadného navození zánětlivého či autoimunitního onemocnění, lze u některých potkaních kmenů sledovat a porovnávat odlišnosti v aktivitě HPA osy. Neuroendokrinní systém je možné prostřednictvím antigenů či pomocí pro-zánětlivých faktorů systematicky a kontrolovatelně manipulovat. K nejvíce využívaným typům imunitních zásahů patří lipopolysacharidy (LPS) vyvolaný septický šok, karagenem (sulfátový polysacharid) vyvolaný lokální zánět či bakteriálními buněčnými stěnami aktivovaná artritida. Analýzou odpovědí na tyto změny u různých potkaních kmenů bylo možné definovat vztah mezi neuroendokrinním a imunitním systémem, a identifikovat některé mechanismy, jejichž prostřednictvím vzniká citlivost či rezistence k imunitním a zánětlivým chorobám.

Příkladem inbredního kmene s vrozenou vnímavostí k bakteriálním buněčným povrchům, LPS, a také k rozvoji zánětu a autoimunitních onemocnění, jsou Lewis (LEW) potkani, kteří mají hypoaktivní HPA osu. Například při podkožním podávání tuberkulózní mykobakterie dochází v kloubech LEW potkanů k rozvoji artritidy s daleko větší závažností, než u outbredních Sprague-Dawley (SD) potkanů. Navíc mají LEW potkani zhoršenou lokální odpověď na zánět při podkožním podávání karagenu, a po intraperitoneálních injekcích streptokokových buněčných stěn opět podléhají artritidě.

Hlavní příčinou snížené reaktivity HPA osy u tohoto kmene je snížená biosyntéza CRH, která vede ke ztrátě glukokortikoidní odpovědi (*Chikada et al.*, 2000). CRH mRNA hodnoty v PVN se významně nezvyšují ani při odpovědi na lipopolysacharidové injekce, které u ostatních kmenů vyvolávají rapidní nárůst tohoto hormonu. Byla u nich nalezena porucha adrenokortikální citlivosti k emocionálním a imunitním stresorům (*Trnečková et al.*, 2006). Ta může být způsobena nízkou aktivitou negativní zpětné vazby glukokortikoidů k imunitním stimulům (*Sternberg et al.*, 1989). LEW potkani mají navíc hyperglykemickou odpověď na stres, což znamená, že při zvýšené glykémii u nich dochází ke zvýšené tvorbě adrenalinu. Nejenže tedy mají poruchu odpovědi HPA osy, ale navíc je u nich stresující situací narušen i sympatoadrenální systém.

LEW potkani jsou tedy vhodným modelem pro studium vztahu mezi neuroendokrinním a pro-zánětlivou odpovědí. Zároveň se velmi často využívají jako model pro zkoumání náchylnosti k užívání léků. U tohoto kmene může existovat přímý vztah mezi reaktivitou HPA osy a závislosti na lécích, resp. manipulace, které by vedly ke zvýšení nebo snížení aktivity HPA osy, by zároveň znamenaly zvýšení či snížení užívání léků. Tento předpoklad ovšem není prozatím potvrzen (*Grakalic et al.*, 2006).

Citlivost LEW potkanů k experimentálně vyvolaným zánětlivým/autoimunitním onemocněním je tedy pravděpodobně spojena s nízkou glukokortikoidní odpovědí. Dokladem tohoto předpokladu je zlepšení průběhu onemocnění, či dokonce jeho úplné zastavení při podávání vyšších dávek glukokortikoidů, a to především mladým samicím tohoto kmene (Tonelli et al., 2001). *Stenberg et al.* (1989) potíže s artritidou u LEW potkanů snížil prostřednictvím podávaných dávek dexametazonu, syntetického steroidního hormonu (kortikosteroidu), který je mimochodem podáván pacientům během radioterapií a chemoterapií pro snížení nevolnosti. Dexametazon nahrazuje fyziologicky syntetizovaný kortisol, a významně potlačuje účinek bakteriálních buněčných stěn, resp. jejich membránového polysacharidu peptidoglykanu, který je původcem vzniku artritidy.

*Sternberg et al.* (1989) se pokusil vytěsnit glukokortikoidy z jejich funkce i u F344 potkanů, kteří ve srovnání s LEW potkany mají HPA osy hyperaktivní a zánětlivými či autoimunitními chorobami téměř vůbec netrpí. Využil antagonistu glukokortikoidního receptoru, tzv. RU 486. Výsledkem byla zvýšená vnímavost k autoimunitním a zánětlivým onemocněním, došlo ke vzniku mírně až středně těžké artritidy, a zároveň se během 12 h po podání pro-zánětlivého stimulu zvýšila průměrná úmrtnost jedinců tohoto kmene. Data tedy nejenom ukazují na důležitost glukokortikoidů v regulaci imunitní odpovědi, ale také na vliv glukokortikoidních regulačních mechanismů při autoimunitních a zánětlivých onemocněních u senzitivních zvířat.

F344 potkani jsou sice velmi odolní proti autoimunitním chorobám a zánětlivým onemocněním, ovšem na druhou stranu jsou poměrně dosti citliví na stres přicházející z okolního prostředí. Je předpoklad, že silná odpověď HPA osy brání imunosupresí rozvoji autoimunitních chorob, by opačně mohla přispívat k větší citlivosti k chorobám vyžadujícím aktivní a silnou imunitní odpověď.

S ohledem na kmenové rozdíly v hladinách kortikosteronu by se očekával rozdíl i v absolutních hodnotách steroidních receptorů typu I (MR) a typu II (GR) v neurální a imunitní soustavě. Ovšem mezikmenové rozdíly v množství receptorů typu I nebyly nalezeny ani v hypotalamu, hippokampu, hypofýze, brzlíku, slezině či periferních mononukleárních buňkách. Stejně tak nebyly pozorovány žádné kmenové rozdíly v množství receptorů typu II, a to ve většině zkoumaných tkání, s jedinou významnou výjimkou. U LEW potkanů byla zaznamenána vyšší schopnost vazby receptorů typu II v brzlíku. SD potkani vykazovali sice menší, ale přesto významně vyšší hladiny vazby na receptory typu II v hippokampu.

Bylo zjištěno, že bazální hladiny glukokortikoidních receptorů (GR) v hippokampu a hypotalamu intaktních LEW a F344 potkanů jsou sice stejné, ovšem po adrenalectomii dojde u F344 potkanů ke zmnožení počtu GR, zatímco LEW potkani mají hladiny zachovány. Poté, co bylo zjištěno, že CRH hladiny jsou ovlivněny negativní zpětnou vazbou uskutečňovanou navázáním glukokortikoidů na GR v

mozku, tato data vyloučila zvýšenou inhibici neuronů produkujících CRH prostřednictvím zvýšené exprese GR u LEW potkanů, jako mechanismu jejich poškozené HPA osy.

## 7.2. Fyziologické a behaviorální rozdíly v reakci na další stresové podněty

---

Fisher potkani mají hyperaktivní HPA osu, díky čemuž jsou citlivější k řadě ji ovlivňujících faktorů. Díky této zvýšené reaktivitě HPA osy je ovlivněno i jejich chování, kdy například při stresové situaci vykazují větší míru bojovnosti (Lahmame et al., 1997). Jedná se asi o nejcitlivěji reagující kmen ke chronickému stresu (Wu & Wang, 2010), při jeho působení potkani upadají do tzv. anhedonie, neboli neschopnosti těšit se, radovat se.

Hyperaktivita HPA osy hraje jistou roli při manifestaci depresivních příznaků, zda může být hlavním důsledkem vzniku depresí, není prozatím jisté (Wu & Wang, 2010). Běžně zvýšené hladiny CRH během cirkadiánního rytmu se při stresové situaci ještě více zvyšují. Velmi vysoké hladiny CRH byly zaznamenány například u neléčených pacientů s velkými depresemi, či u sebevražděných obětí. *Spencer et al.* (1996) zaznamenal jeho zvýšenou koncentraci u chronicky stresovaných potkanů. U samců umístěných v jednom prostoru se samicemi došlo postupně k vytvoření dominantně-podřízených vztahů. Neuroendokrinní měření ukázala, že u podřízených samců dochází k hyperstimulaci HPA osy. Dle *Lahmame et al.* (1997) mezi depresemi a zvýšenými hladinami CRH není přímá korelace. Je jisté, že do regulace příbuzných jevů, jako je strach a úzkost, CRH zapojen je, ale při depresích je jen vedlejším faktorem.

Při aplikaci tzv. „sacharóзовého spotřebního testu“ bylo u tohoto kmene potkanů objeveno snížené spotřebovávání cukrů (Wu & Wang, 2010), což by vysvětlovalo inklinaci tohoto kmene k nepříteli aktivnímu chování. Ovšem *Lahmame et al.* (1997) objevili, že F344 potkani jsou během tzv. FST (forced-swimming test), neboli tzv. testu vynuceného plavání, nejaktivnějším kmenem.

LEW a F344 potkani mají odlišnou činnost mezolimbické dráhy. Jedná se o jednu z dopaminergních drah vycházející ze *substantia nigra* a *nucleus arcuatus* středního mozku, směřující do oblastí limbického systému. Tato dráha je zapojena do modulace odpovědi na podněty, které vyvolávají pocity odměny a motivace. V souvislosti s dopaminem je tato dráha důležitá při výzkumu Parkinsonovy choroby a schizofrenie. Odlišná aktivita mezolimbické dráhy u těchto dvou kmenů naznačuje možné rozdílné biochemické a fyziologické mechanismy, které zprostředkovávají odpověď na přítomnost léku, či drogy (Grakalic et al., 2006).

Fisher potkani jsou kromě výzkumu depresivních stavů využíváni k porovnání vztahu mezi aktivitou HPA osy a metabolismem. Tento kmen má poměrně vysoké procento tělesného tuku, které se ve stresové situaci ukládá především v oblasti břicha. Tzv. viscerální tuk nabývá ve chvíli, kdy glukokortikoidy štěpí proteiny obsažené ve svalech, a získaná energie se ukládá do tukových zásob. Tato metabolická porucha je základem nejrizikovější formy obezity (Marissal-Arvy et al., 2007).

Rozdíly v citlivosti HPA osy mezi jednotlivými kmeny můžeme vidět již v podmínkách akutního stresu. Při dlouhodobých, či opakujících se stresových situacích dochází pouze k zesílení daných odlišností. Například v porovnání se SD a LEW potkany, vykazují F344 potkani značně vyšší aktivaci HPA osy v odpovědi na akutní stres, či na imunitní výzvu (Dhabdar et al., 1997), při chronickém stresu dochází jen k narůstání této difference. Rozdíly v odpovědi HPA osy mezi jednotlivými kmeny jsou patrné již z postoje zaujímaného potkany ve stresových situacích. Někteří jsou aktivní, jiní lhostejně přijímají nastalou situaci a bezbranně čekají, co se bude odehrávat dál.

Goméz et al. (1996) u F344 potkanů objevil, že na rozdíl od SD a LEW potkanů, udržují během dlouhotrvajících, či opakovaných stresových situací významně vyšší hladiny ACTH a kortikosteronu. Proto je poměrně zajímavé, že při chronickém stresu nemají F344 potkani, na rozdíl od SD a LEW potkanů, žádné návyky či adaptace na zvýšený kortikosteron (Wu & Wang, 2010). Zdrojem dalších kmenových rozdílů jsou vyšší hladiny ACTH v krvi, které u F344 potkanů, na rozdíl od ostatních, způsobují hypertrofii nadledvin (Dhabdar et al., 1995).

Rozdíly v odpovědi na stresovou situaci nebyly zkoumány pouze na periférii, či pomocí behaviorálního chování, ale byly pozorovány i v rámci CNS. Mozková činnost při probíhající stresové situaci byla Trnečkovou et al. (2006) zkoumána u kmene Sprague-Dawley a Lewis potkanů pomocí exprese c-fos mRNA, markeru neurální aktivity. Imobilizace (IMO) samotná, či v kombinaci s FST testem aktivovala expresi c-fos ve specifických mozkových oblastech. Pomocí *in-situ* hybridizace byla objevena v prefrontálním kortexu, amygdale a PVN hypotalamu, zatímco u nestresovaných kontrol nebyla v daných oblastech mozku detekována. Při porovnání SD a LEW potkanů, je celková aktivita HPA osy u LEW snižena, není ale jisté, do jaké míry souvisí s reakcí na stres, a kolik přispívají genetické vlohky daného kmene. Zkoumáním exprese c-fos genu v mozku a sakrální spinální míše se zabýval také Million et al. (2000), který zjistil, že po krátkodobém vystavení stresové zátěži dochází u LEW, ve srovnání s F344 potkany, k nižšímu nárůstu fos-pozitivních buněk v PVN hypotalamu. Snižena aktivace neuronů PVN u tohoto kmene vede i ke snížení stresem vyvolaných stavů.

Hypotéza, že potkani odpovídající na stresovou situaci pasivním způsobem mohou mít zvýšené hladiny CRH v mozku, nebyla prozatím potvrzena. Potkani, kteří byli shledáni za nejlepší model

depresivního chování, ani jeden nevykazovali zvýšený obsah CRH v mozku, ani jeho sníženou schopnost navázání se na receptor (Lahmame et al., 1997).

*Goméz et al.* (1996) studoval účinky chronického stresu na HPA osu pomocí imobilizačního testu (IMO). Jeho výsledky se shodovaly s již dříve zjištěnými údaji. LEW potkani sice netrpí anhedonií, ale projevují větší míru imobilizace a nebojovnosti, v porovnání s potkany ostatních kmenů.

Bylo zjištěno, že pro potkany, coby velice společenské tvory, je nejhorším typem stresové situace jejich izolace od ostatních členů skupiny. U F344 potkanů, a překvapivě i u potkanů kmene SD, dochází při separaci ke zvýšení hladin kortikosteronu. SD potkani, ale na rozdíl od F344, nevykazují anhedonické chování a nehybnost během FST testu, ovšem prodlužující se délka jejich izolace vyvolává obrovskou míru úzkosti a bezmocného chování. U izolovaných LEW potkanů je hladina kortikosteronu ve srovnání s F344 a SD potkany významně nižší.

## 8. Závěr

---

Při porovnávání rozdílných aktivit HPA osy u jednotlivých kmenů potkanů byly nacházeny jak změny fyziologické, tak změny vyvolané stresovou zátěží. Některé kmeny potkanů mají běžně odpověď HPA osy sníženou, jiné naopak hyperaktivní. V závislosti na tom se pak odvíjí i jejich reakce na stresovou zátěž, jejíž vyvolání pomáhá ilustrovat funkci HPA osy. Akutní stres pro většinu kmenů není příliš zatěžujícím. Dochází sice ke změnám některých fyziologických funkcí, ale ty se po navrácení do klidového režimu rychle stabilizují. Při dlouhodobých, či opakujících se zátěžích dochází ke vzniku řady fyziologických a především psychických změn. Ty se na jedinci podepisují změnou metabolismu, ukládáním tukových zásob v oblasti břicha, vznikem depresí a celkového vyčerpání. Častým způsobem vyvolání stresových situací je navození zánětu. Jako vhodný model pro studium vztahu mezi neuroendokrinní a pro-zánětlivou odpovědí jsou kmeny se sníženou aktivitou HPA osy. Jejich snížená glukokortikoidní odpověď je pravděpodobně zodpovědná za zvýšenou citlivost k zánětlivým či autoimunitním chorobám. Naopak potkani, kteří mají HPA osu hyperaktivní, jsou vůči těmto onemocněním velmi odolní. Mají ovšem zvýšenou citlivost ke stresovým situacím přicházejícím z okolního prostředí. Je tedy možné, že by u těchto kmenů zvýšená imunosuprese k autoimunitním chorobám mohla působit problémy ve chvíli, kdy je naopak silná imunitní odpověď potřebná. Vliv stresové zátěže byl většinou interpretován jako zvýšení, či snížení aktivity HPA osy. Přesné mechanismy účinku nebyly prozatím příliš popisovány, a pravděpodobně budou z části předmětem mnou předpokládané budoucí diplomové práce.

## 9. Seznam použité literatury

---

**Aguilera G.** Corticotropin releasing hormone, receptor regulation and the stress response. *Trends Endocrinol Metab* 9: 329-36, 1998.

**Anisman H., Hayley S, Turrin N, Merali Z.** Cytokines as a stressor: implications for depressive illness. *Int J Neuropsychopharmacol* 5: 357-73, 2002.

**Banks WA, Kastin AJ, Pan W, Mannes LM.** Peptides crossing the blood-brain barrier: some unusual observations. *Brain Res* 848: 96-100, 1999.

**Besedovsky HO, del Rey A.** Central and peripheral cytokines mediate immune-brain connectivity. *Neurochem Res* 36: 1-6, 2011.

**Čihák R, Druga R, Grim M.** Anatomie III. Avicenum, 2004.

**Dhabhar FS, Miller AH, McEwen BS, Spencer RL.** Differential activation of adrenal steroid receptors in neural and immune tissues of Sprague Dawley, Fischer 344, and Lewis rats. *J Neuroimmunol* 56: 77-90, 1995.

**Dhabhar FS, McEwen BS, Spencer RL.** Adaptation to prolonged or repeated stress-comparison between rat strains showing intrinsic differences in reactivity to acute stress. *Neuroendocrinology* 65: 360-8, 1997.

**Draper N, Stewart PM.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *J Endocrinol* 186: 251-71, 2005.

**Dunn AJ.** Effects of cytokines on brain neurochemistry. *Clin Neurosci Res* 6: 52-68, 2006.

**Elenkov IJ, Webster EL, Torpy DJ, Chrousos GP.** Stress, corticotropin-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response: acute and chronic effects. *Ann N Y Acad Sci* 876: 1-11, 1999.

**Draper N, Stewart PM.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *J Endocrinol* 186:251-71, 2005.

**Ganong WF.** Přehled lékařské fyziologie. Galen, 2005.

**Gómez F, Lahmame A, de Kloet ER, Armario A.** Hypothalamic-pituitary-adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level. *Neuroendocrinology* 63: 327-37, 1996.

**Grakalic I, Schindler CW, Baumann MH, Rice KC, Riley AL.** Effects of stress modulation on morphine-induced conditioned place preferences and plasma corticosterone levels in Fischer, Lewis, and Sprague-Dawley rat strains. *Psychopharmacology* 189: 277-86, 2006.

**Haddad JJ, Saadé NE, Safieh-Garabedian B.** Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. *J Neuroimmunol* 133: 1-19, 2002).

**Harris HJ, Kotelevtsev Y, Mullins JJ, Seckl JR, Holmes MC.** Intracellular regeneration of glucocorticoids by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11beta-HSD)-1 plays a key role in regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: analysis of 11beta-HSD-1-deficient mice. *Endocrinology* 142: 114-20, 2001.

**Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE.** Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 24: 151-80, 2003.

**Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ostrander MM.** Limbic system mechanism of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog in Neuropsychopharmacology Bio Psychiatry* 29: 1201-13, 2005.

**Holmes MC, Seckl JR.** The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases in the brain. *Mol Cell Endocrinol* 248: 9-14, 2006.

**Chapman KE, Seckl JR.** 11beta-HSD1, inflammation, metabolic disease and age-related cognitive (dys)function. *Neurochem Res* 33: 624-36, 2008.

**Chikada N, Imaki T, Harada S, Nakajima K, Naruse M, Yoshimoto T, Seki T, Tanabe A, Takano K.** A defect of lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase gene expression in the paraventricular nucleus of Lewis rats. *Endocr J* 47: 221-9, 2000.

**Jellinck PH, Dhabhar FS, Sakai RR, McEwen BS.** Long-term corticosteroid treatment but not chronic stress affects 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in rat brain and peripheral tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 60: 319-23, 1997.

**de Kloet ER, Van Acker SA, Sibug RM, Oitzl MS, Meijer OC, Rahmouni K, de Jong W.** Brain mineralocorticoid receptors and centrally regulated functions. *Kidney Int* 57: 1329-36, 2000.

**de Kloet ER, Champagne DL, van der Veen R.** Hypotheses of glucocorticoid actions revisited. *Neurosci Biobehav Rev* 34: 853-66, 2010.

**Lahmame A, Grigoriadis DE, De Souza EB, Armario A.** Brain corticotropin-releasing factor immunoreactivity and receptors in five inbred rat strains: relationship to forced swimming behaviour. *Brain Res* 750: 285-92, 1997.

**Marissal-Arvy N, Gaumont A, Langlois A, Dabertrand F, Bouhecareilh M, Tridon C, Mormede P.** Strain differences in hypothalamic pituitary adrenocortical axis function and adipogenic effects of corticosterone in rats. *J Endocrinol* 195: 473-84, 2007.

**Million M, Wang L, Martinez V, Taché Y.** Differential Fos expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus, sacral parasympathetic nucleus and colonic motor response to water avoidance stress in Fischer and Lewis rats. *Brain Res* 877: 345-53, 2000.

**Muller C, Pompon D, Urban P, Morfin R.** Inter-conversion of 7alpha- and 7beta-hydroxy-dehydroepiandrosterone by the human 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type1. *J Steroid Biochem Mol Biol* 99: 215-22, 2006.

**Nadeau S, Rivest S.** Glucocorticoids play a fundamental role in protecting the brain during Innate immune response. *J Neurosci* 23: 5536-44, 2003.

**O'Sullivan LA, Liongue C, Lewis RS, Stephenson SE, Ward AC.** Cytokine receptor signaling through the Jak-Stat-Socs pathway in disease. *Mol Immunol* 44: 2497-506, 2007.

**Reul JM, Droste S, Stec IS, Weber A, Bachmann C, Bilang-Bleuel A, Holsboer F, Linthorst AC.** The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function. *Eur J Pharmacol* 405: 235-49, 2000.

**Rivest S.** Interactions between the immune and the neuroendocrine systems. *Prog Brain Res* 181: 43-53, 2010.

**Sanches MM.** The impact of early adverse care on HPA axis development: nonhuman primate models. *Horm Behav* 50: 623-31, 2006.

**Seckl JR, Holmes MC, Welberg LL, O'Regan D.** Glucocorticoid programming of pituitary-adrenal function: mechanism and physiological consequences. *Semin Neonatol* 6: 319-29, 2001.

**Spencer RL, Miller AH, Moday H, McEwen BS, Blanchard RJ, Blanchard DC, Sakai RR.** Chronic social stress produces reductions in available splenic type II corticosteroid receptor binding and plasma corticosteroid binding globulin levels. *Psychoneuroendocrinology* 21: 95-109, 1996.

**Sternberg EM, Hill JM, Chrousos GP, Kamilaris T, Listwak SJ, Gold PW, Wilder RL.** Inflammatory mediator-induced HPA axis activation is defective in streptococcal cell wall arthritis-susceptible Lewis rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2374-8, 1989.

**Taché Y, Stengel A.** Neuroendocrine control of the gut during stress: corticotropin releasing factor signaling pathways in the spotlight. *Annu Rev Physiol* 71: 219-39, 2009.

**Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM.** 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev* 25: 831-66, 2004.

**Tonelli L, Webster JI, Rapp KL, Sternberg E.** Neuroendocrine responses regulating susceptibility and resistance to autoimmune/inflammatory disease in inbred rat strains. *Immunol Rev* 184: 203-11, 2001.

**Trněčková L, Armario A, Hynie S, Sída P, Klenerová V.** Differences in the brain expression of c-fos mRNA after restraint stress in Lewis compared to Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 1077: 7-15, 2006.

**Vagnerová K, Kverka M, Klusonová P, Ergang P, Mikšík I, Tlaskalová-Hogenová H, Pácha J.** Intestinal inflammation modulates expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in murine gut. *J Endocrinol* 191: 497-503, 2006.

**Webster EL, Torpy DJ, Elenkov IJ, Chrousos GP.** Corticotropin-releasing hormone and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 840: 21-32, 1998.

**White PC, Mune T, Rogerson FM, Kayes KM, Agarwal AK.** Molecular analysis of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and its role in the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Steroids* 62: 83-8, 1997.

**Whitnall MH.** Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Prog Neurobiol* 40: 573-629, 1993.

**Wu HH, Wang S.** Strain differences in the chronic mild stress animal model of depression. *Behav Brain Res* 213: 94-102, 2010.

**Ziegler DR, Herman JP.** Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat. *Integr Comp Biol* 42: 541-551, 2002.

#### **Internetové zdroje:**

<http://www.en.wikipedia.org/wiki/Hypothalamus>

<http://www.CNS.forum.com>